



TITLE:

種實グロブリンの變質に就て

AUTHOR(S):

森, 茂樹

CITATION:

森, 茂樹. 種實グロブリンの變質に就て. 化学研究所講演集 1947, 14: 37-42

ISSUE DATE:

1947-03-10

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/73768>

RIGHT:

種實グロブリンの變質に就て

近 藤 研 究 室

森 茂 樹

A. 緒 言

種實の貯藏中其の成分が變質する事實は周知の如く其の外觀に依つても、亦其の食味に於ても容易に判別し得る事柄である。斯くの如き變化は種實成分全體の變質に因ることは勿論であつて、其の原因は記するまでもなく種實自體の酵素に因るものである。變質に伴つて發現する顯著なる現象は之を數多の例によつて指摘し得るのであるが、今特に蛋白の變質と直接關聯のある二三の事項に就て實驗した結果に基づき考察を加へて見ようと思ふ。

B. 實 驗 成 績

I. 水及び稀薄中性鹽に對する溶解性

植物の種類により其の種實に含まれる蛋白の種類及び含量には夫々の特長がある。例へば荳科植物の種實に於ては Globulin が蛋白の大部分を占めるのであるが、禾本科植物の種實に於ては Globulin の他に Prolamin を多く含むが如きである。さりとて一般種實に於て夫等の蛋白の主要部分を Globulin が占めることは共通の事柄である。従つて種實を中性鹽溶液を以て抽出を行へば Albumin はもとよりのこと、同時に多量の Globulin が抽出せられるのは當然であるが、單に水のみを以て抽出を行つてもほぼ同様の結果を得られるのである。其の理由は種實に多量に含まれる無機成分の主要部分は一般に加里及び磷酸より成り、夫等の無機成分が蛋白と複合する類脂體及び糖類等との間に有機的結合をなし、然かも猶ほ強き緩衝性を有して蛋白を初め諸成分の親水性を保持して居るのに因ると考へられる。従つて一旦組織を破碎して水を以て抽出を行へば以上の如き成分は蛋白と複合せるままの状態を以て同時に溶出せられる結果となるのである。而して蛋白の抽出量は新鮮なる種實に於ては特に著しいのであるが貯藏條件に應じて次第に變化し、遂には其の新鮮時と比較して驚くべき差異を呈するに至るのである。

今一例として貯藏期間を異にせる大豆に就て行つた實驗結果を第1表に示して見よう。實驗に供用した試料 A, B, C 及び D は何れも黃色中粒雜種大豆で收穫直後より略々同一條件の下に注意して硝子容器で貯藏したもので、貯藏月數は夫々 3, 15, 26 及び 38 個月であつた。定量に際して、試料を破碎し、豫め其の全窒素量を定量し、次に其の粉末 5g に水 5 cc を加へ、3 分間攪拌後遠心分離によつて其の上澄液を採取し、次に其の殘渣に 2nNaCl 50cc、更に 0.05n Na

OH 50cc を順次に加へ、其の都度遠心分離によつて上澄液を分ち夫々一定容となし、其の一定量中の窒素量を定量し、各抽出液全容中の窒素量を試料の全窒素量に對する百分率を以て算出したものである。

第 1 表

窒 素 形 態	A	B	C	D
	%	%	%	%
水 可 溶 性 窒 素 量	59.10	41.82	36.28	32.15
2n 食 鹽 可 溶 性 窒 素 量	14.60	19.32	17.63	15.72
0.05n 苛性曹達可溶性窒素量	10.44	18.04	21.45	25.78
合 計	84.14	79.18	75.36	73.65
抽 出 殘 渣 中 の 窒 素 量	15.86	20.82	24.64	26.35

又、記するまでもなく變質は前記の如く貯藏の條件即ち溫度、濕度、通氣及び光等の要因に因つて著しい影響を受けるのであるが、今下記の如き試料につき暗所に於て 35°C、飽和濕度の下に一定日數放置して急速に變質を促進せしめ其間に起る變化を試験して見た。其の結果は

第 2 表

試料	經 過 日 數		0	2	4	6
	窒 素 形 態		%	%	%	%
大 麥	水 可 溶 性 窒 素 量		17.83	13.32	13.08	12.42
	2n 食 鹽 可 溶 性 窒 素 量		7.43	10.83	9.88	9.24
	70% 酒 精 可 溶 性 窒 素 量		25.56	25.81	25.17	25.49
	0.05n 苛性曹達可溶性窒素量		21.75	27.41	28.04	28.04
	蛋白態窒素×100 全 窒 素	水 抽 出 液 中	50.93	41.14	36.48	32.83
		2n 食 鹽 抽 出 液 中	96.24	63.38	64.50	64.85
	水 可 溶 性 窒 素 量		22.03	22.55	21.00	20.08
	2n 食 鹽 可 溶 性 窒 素 量		9.20	8.96	8.55	8.03
小 麥	70% 酒 精 可 溶 性 窒 素 量		29.29	30.89	29.96	30.27
	0.05n 苛性曹達可溶性窒素量		26.32	27.18	28.15	29.03
	蛋白態窒素×100 全 窒 素	水 抽 出 液 中	50.93	41.14	36.48	32.83
		2n 食 鹽 抽 出 液 中	96.24	69.38	64.50	61.85
	水 可 溶 性 窒 素 量		15.14	9.97	8.12	10.61
	2n 食 鹽 可 溶 性 窒 素 量		7.61	6.65	4.43	5.41
	70% 酒 精 可 溶 性 窒 素 量		13.81	5.54	9.97	11.91
	0.05n 苛性曹達可溶性窒素量		18.54	19.57	17.73	19.84
玉 蜀 黍	蛋白態窒素×100 全 窒 素	水 抽 出 液 中	40.78	22.81	11.64	4.73
		2n 食 鹽 抽 出 液 中	61.75	51.11	50.00	48.00

第2表に示す通りである。勿論、此の場合豫め容器にはトルオール及びクロロフォルムを加へて殺菌の處理を施した。定量の方法は前掲の大豆の場合と大略同様に粉碎せる試料に水、2n NaCl, 70%酒精及び0.05n NaOH を試料の約10倍量宛加へて順次に抽出を行ひ、抽出液の窒素量を定量し、試料中の全窒素量に對する百分比を算出した。又別に抽出液の一定容に對し其の1/4容の10%三鹽化醋酸を加へた時に生じた沈澱中の窒素量（蛋白態窒素量）及び同一抽出液一定容中の全窒素量を定量して前者との比率を求めて抽出液中の全窒素に對する蛋白態窒素の比率を算出した、實驗で供用した材料は下記の如くで何れも收穫後1個月以上を經過せざる新鮮品であつた。

小 麥	農 林 21 號	京大農學部京都農場產（昭和17年產）
裸大麥	やねはだか	同 攝津農場產（ 〃 ）
玉蜀黍	長 野 1 號	同 同 （ 〃 ）

Ⅱ 種實の水素イオン濃度

種實の貯藏中種實自體の水素イオン濃度が次第に酸性側に移動することは著目すべき現象の一である。本來新鮮なる種實の水又は稀薄中性鹽による抽出液の水素イオン濃度は概ね pH6.5 附近に限られて居るから此の値を種實の生理的酸性度と見做してよいと思ふ。然るに變質の進行に伴ひ次第に酸性に傾き著しい場合には pH4 附近に迄達するのである。のみならず變質の結果第2表に示した如く蛋白量は減少し、逆に非蛋白性物質がそれに應じて増加するのであるが、更に其の事實を例示すれば第3表の如くである。

(a) 實 驗 材 料

實驗に供用した材料は何れも收穫直後入手したものを注意して冷暗所に約6個月保存したものであるが、大麻種實のみは收穫後推定約1個年を經過した市販品であつた。

(b) 實 驗 方 法

供試種實を粉碎し、その粉末10gに 0°Cの水100ccを加へ、0°Cに保つて1時間攪拌して水抽出液を調製し、その直後並に 35°C にて20時間放置後に於てpH價及び全窒素と蛋白態窒素量と

第 3 表

供試蛋白材料		落花生	脱脂落花生	大豆	脱脂大豆	豌豆	小豆	大麻	棉實
定 量 事 項		%	%	%	%	%	%	%	%
蛋白窒素×100 全 窒 素	(a) 抽出直後	89.38	82.65	95.97	88.72	61.36	84.35	64.71	60.28
	(b) 變質後	72.75	70.15	79.49	72.63	52.27	75.00	44.12	34.58
蛋白減少率, (a)-(b)		16.63	12.50	16.48	16.09	9.09	9.35	20.59	25.70
pH	抽出直後	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.4	6.3
	變質後	4.0	4.0	4.2	4.3	4.8	4.8	3.4	3.5
S H 量 (Cysteineとして) 變質後		0	0	0	0	0	0	0	0

を測定してみた。但し pH 價は比色法によつて測定し蛋白態窒素は一定容の抽出液に $\frac{1}{4}$ 容の10%三氯化醋酸を加へた時に生じた蛋白沈澱中の窒素を定量したのであるが第3表には全窒素と蛋白態窒素との比率を求めて掲げて置いた。

Ⅱ 活性 SH 基量

種實蛋白の活性 SH 基量の變化も亦種實の貯藏中に起る變化の中特筆すべき事柄の一である。本來種實 Globulinは一定量の活性SHを含み⁽¹⁾、且つ貯藏中に其の値が次第に減少して行くことは曩に大豆に就て實驗⁽²⁾したところであるが、一般種實に於ても同様の現象の起ることも亦實驗によつて確め得たところである。本實驗に於て抽出直後の供試蛋白溶液 5cc を採取し、前記の條件の下にて變質せしめたる後、既報⁽³⁾の方法により、之に稀薄苛性曹達及び炭酸鹽緩衝液を加へて pH7.0となし、更に 0.1n 沃度醋酸アミド 2ccを加へて 20°C に於て30分間作用せしめた後 HI の生成量を検査した結果は第3表に示した通りで、HIの生成は何れも皆無であることを確めた。即ち極度に變質せる蛋白に於ては總ての活性 SH が全く消滅するのである。

C. 考 察

以上の諸事實即ち水或ひは鹽類に可溶性蛋白の抽出量の減少と、抽出液の pH 價の酸性側への移動及び活性 SH 基の減少は一見關係なき別個の事實の如く觀られるが、屢々記述せる如く其の變化の傾向は全く相關的であつて、更に其の原因に就て考察するならば、相關聯する現象と異なる觀點より觀察した結果であることを實驗の結果がよく示して居ると思ふ。

即ち先づ水及び鹽類溶液に抽出される蛋白量の減少する理由に就て考へて見るに、變質前には水又は稀薄鹽類溶液に對し可溶性であつた蛋白 (Globulin) が、變質によつて構造の變化を齎し、其の結果疎水性となつたものと思はれるのである。水又は稀薄鹽類溶液に可溶性蛋白の抽出量が減少する場合には必ず逆に非蛋白性窒素物が増加する。故に變質に當つて蛋白構成成分の一部分は低級の窒素物に崩壊し、殘餘の大部分は原蛋白とは全く異なる構造及び性質を有する蛋白に變化するのである。

貯藏中變質した蛋白は水或ひは稀薄鹽類溶液 (相當高い濃度に於ても) には最早全く不溶解となるが⁽⁴⁾稀薄苛性アルカリ溶液には容易に溶解するのであつて、所謂 Glutelin 態蛋白は變質の進行に伴つて増加する結果となることは筆者の實驗のみならず、又既に他の實驗者も同じく經驗したところである。

Globulinが變質して疎水性の狀態に變化する原因に就ての説明は暫らく措き、變質の結果蛋白のアミノ酸の構成は一變し、表面電氣的性質に大なる變動を齎し、等電點及び等電帶等にも著しい變化を及ぼすのである。大豆其の他前掲の種實蛋白に就て實驗した結果によれば、變質の結果は等電點は移動し又等電帶は擴大するのである。一方蛋白の部分的崩壊によつて生成した物質は筆者が大豆に就て精査し⁽⁵⁾、諸種の種實に就て定性したところでは Proteose, Peptone

及び更に低級の Peptide 等で、夫れ自體の等電點が pH3~4 の水溶性物質であつて、之等の物質の生成の結果、抽出液の水素イオン濃度が酸性を呈することとなるのは容易に理解し得るところである。

抽出液が酸性に傾く原因として Glycerides が Lipase によつて水解せられ、脂肪酸の生成することに因ることも想像せられるが、上掲の實驗結果に示すが如く、脱脂せる種實と脱脂せざる種實に就て比較すれば、何れも同様の結果を示す事實により、原因が全く蛋白の變質に起因するものであることは明かである。

次に活性SH基に就て考察してみるに、新鮮なる種實蛋白は相當量の活性 SH を含むにも拘らず、變質の進行と共に減少し、遂に全く消滅する理由は種實自體の呼吸力即ち生活力の減退に因ることは疑ひない。即ち種實は貯藏條件により深淺の差こそあれ、不斷に内部的活動を續けて居るがために其の活力を失つて行くのである。

種實蛋白のSH基が消滅する機構は主に普通呼吸反應の型式により $\text{SH} \rightarrow \text{S-S}$ の如く進行して行くものと考へられるが、蛋白の變質に際し全部の SH基が斯様な變化をするものか、或ひは其の一部分は他の形式による轉位（例へば Steric hindrance）によるものか斷言し難いが、硫黃の結合形式の變化に因つて蛋白の構造に大なる變動が齎されることを想像することは近年報ぜられた多くの事實に基づき強ち無理でないと思ぜられる。換言すれば活潑なる生理的活性を有する生體蛋白は總べて活性 SH 基を有するが、其の活性を失ふことに因り SH 基が消失し、同時に蛋白の構造にも變化を齎すことになる。勿論硫黃の結合形式のみが蛋白の構造變形を左右するものではないが、生理的活性を有する種實蛋白⁽¹⁾ 或ひは筋肉蛋白⁽²⁾ には總べて一定量の活性SH基を含有して居るのに對し、變質種實蛋白或ひは生理的活性に乏しい Keratin 又は Elastin 等の蛋白にSH基を含まない事實は硫黃の結合形式が蛋白の構造上のみならず、生理的活度 (Biological activity) とも密接なる關係を有することを如實に示すものである。

以上の如き事實は種實蛋白に共通する現象で、實際上食用種實の貯藏の上にも、猶又種實蛋白の分離調製の際にも特に注意すべき問題である。

D. 要 約

1. 大豆、落花生、豌豆、小豆、大麻、棉實、小麥、大麥及び玉蜀黍等の種實に就き、所含蛋白が貯藏中變質の結果、(1) 水及び中性鹽類の溶液に可溶性の蛋白が難溶性に變化するが、變質した夫等蛋白は稀薄アルカリ溶液には可溶性であるから所謂 Glutelin 態蛋白は變質の進行に伴ひ増加すること、(2) 蛋白が變質する場合には其の一部分は崩壊し、同時に酸性の分解産物を生成遊離するために抽出液の水素イオン濃度は酸性側に移動すること及び、(3) 蛋白のSH基が變質の程度に應じ減少する事實を指摘した。

2. 以上の事實は常に相關的に生起することを指摘し、其の原因に就て考察した。

終りに臨み本研究を行ふに當り終始御懇篤なる御指導を忝ふせし恩師京都帝國大學教授近藤金助先生に謹んで感謝の意を捧げ、併せて研究材料の入手に當り特別の配慮に預つた京大助教

授木村光雄氏に深く謝意を表する次第である。尙本研究は文部省科學研究費の補助に依つて遂行し得たのである。記して以て深甚の感謝の意を表する。

文 献

- 1) 森：農化. 20, 179(1944)
 - 2) 森：農化. 18, 151(1942)
 - 3) 森：農化. 18, 41(1942)
 - 4) D. B. Jones & C. E.F. Gersdorff : J. Amer. Chem. Soc., 60, 723(1938),
Cereal Chem., 18, 417(1941)
 - 5) 森：農化, 20, 111 (1944)
 - 6) J. P. Greenstein & J. T. Edsall : J. Biol. Chem., 133, 397(1940),
A.E. Mirsky : J. Gen. Physiol., 19, 559(1935—1936)
- 森：化學研究所講演集 14, 43(1945)